饲粮硒含量对酮病奶牛氧化应激的缓解作用[1]

周媛丽[1]　叶耿坪[2*]　刘光磊[2]

(1.江苏农牧科技职业学院宠物科技学院，泰州 225300；2.上海光明荷斯坦牧业有限公司，上海 200436)

摘　要：本试验旨在通过研究饲粮硒含量对酮病奶牛氧化应激的缓解作用，并确定酮病奶牛对硒的最适需求量。采用完全随机区组设计，将 40 头胎次为(3.43±0.87)胎、泌乳天数为(6.33±1.14) d、体重为（644±36） kg、平均泌乳量为（38.42±4.82） kg/d、血浆 β-羟丁酸（BHBA）水平为（1.50±0.26） mmol/L 的荷斯坦奶牛随机分成 4 组，每组 10 头牛。第 1 组为对照组，饲喂基础饲粮（硒含量为 0.15 mg/kg DM）；第 2、3、4 组为试验组，在基础饲粮中加入亚硒酸钠（Na_2SeO_3）至饲粮硒含量分别达到 0.30（试验组 1）、0.45（试验组 2）和 0.60 mg/kg DM（试验组 3）。试验分为 3 期，每期 1 周。试验每期结束后采集血样，并在第 2 期结束后每组随机选取 5 头牛采集肝组织。结果表明：1）试验组酮病奶牛全血、肝脏中硒含量，肝脏中总抗氧化能力（T-AOC）、超氧化物歧化酶（SOD）活性和谷胱甘肽过氧化物酶（GPx）活性以及 *GPx*1 与 *GPx*4 mRNA 的相对表达水平均显著高于对照组（$P<0.05$），同时试验组 2 和 3 还显著高于试验组 1（$P<0.05$）。2）试验组酮病奶牛肝脏中丙二醛（MDA）和过氧化氢（H_2O_2）含量均显著低于对照组（$P<0.05$），同时试验组 2 和 3 还显著低于试验组 1（$P<0.05$）。3）试验组酮病奶牛血浆非脂化脂肪酸（NEFA）水平显著低于对照组（$P<0.05$），但血浆葡萄糖和 BHBA 水平与对照组相比无显著差异（$P>0.05$）。4）饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时，酮病奶牛全血和肝脏中硒含量、肝脏抗氧化指标和血浆能量代谢指标均无显著差异（$P>0.05$）。由此得出，饲粮硒含量为 0.45 mg/kg DM 时可显著改善酮病奶牛机体的抗氧化能力。

关键词：酮病奶牛；硒；抗氧化；肝组织；氧化应激

收稿日期：2016-07-26

基金项目：生鲜牛乳中潜在生物性危害因子的评估研究[沪农科攻字（2013）第 3-1 号]；江苏高校品牌专业建设工程资助项目（PPZY2015C230）

作者简介：周媛丽（1987-），女，江苏宿迁人，助教，硕士，从事畜牧兽医方面的科学研究与教学工作。E-mail: 1045236430@qq.com

*通信作者：叶耿坪，E-mail: ygphappy@163.com

中图分类号：S816　　　　　　　　　文献标识码：A　　　　　　　　　文章编号：

酮病是奶牛产后发病率最高的营养代谢性疾病，为弥补能量赤字，奶牛机体发生脂肪动员产生非脂化脂肪酸（NEFA），NEFA 不完全氧化转化为酮体，后者超过机体分解能力时就蓄积于体内，当血液中的 β-羟丁酸（BHBA）水平达到 1.2 mmol/L 时就判定为酮病，酮病能损害奶牛机体的防御系统，影响奶牛的免疫反应，降低抗病能力[1-4]。肝脏中 NEFA 的氧化作用加强，导致了活性氧族（ROS）的增多，促进了氧化应激的发生[5]，氧化应激可导致奶牛机体功能紊乱，从而影响奶牛的生产性能[6-7]。硒（Se）是重要的食源性微量元素，主要功能是作为谷胱甘肽过氧化物酶（GPx）的组成成分，而 GPx 具有抗氧化功能，通过催化还原型谷胱甘肽把体内有害过氧化物还原为无害的羟基化合物，从而保护细胞的结构和正常功能免受过氧化物的损害[8-11]。本试验旨在通过研究饲粮硒含量对酮病奶牛氧化应激的缓解作用及其机制，为硒在改善奶牛产后机体健康及生产性能的广泛应用提供理论依据和数据支持。

1　材料与方法

1.1　试验动物及饲养管理

试验动物：胎次为（3.43±0.87）胎、泌乳天数为（6.33±1.14） d、体重为（644±36） kg、平均泌乳量为（38.42±4.82） kg/d、血浆 BHBA 水平为（1.50±0.26） mmol/L 的荷斯坦奶牛。

饲养管理：双列对尾栓系式饲养，自由饮水。试验参照 NRC（2001）奶牛营养需要并结合生产实践统一配制基础饲粮（表 1）[12]，每日饲喂 3 次（07:00、14:00 和 21:00），每个饲喂点采用管道式挤奶 1 次。

表 1　基础饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis)　　　　%

原料 Ingredients	含量 Content
青贮玉米 Corn silage	18.40
苜蓿干草 Alfalfa hay	16.20
燕麦 Oats hay	4.60
玉米 Corn	27.50
豆粕 Soybean meal	11.00
玉米干酒糟及其可溶物 Corn	4.30

DDGS	
玉米胚芽 Corn germ	3.40
膨化大豆 Extruded soybean	2.10
脂肪酸钙 Fatty acid calcium	1.10
光棉籽 Cottonseed without lint	3.00
甜菜粕 Beet pulp	6.40
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.43
食盐 NaCl	0.19
碳酸氢钠 $NaHCO_3$	0.43
预混料 Premix[1)]	0.95
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]	
泌乳净能 NE_L/（MJ/kg）	7.03
粗蛋白质 CP	17.20
中性洗涤纤维 NDF	33.80
酸性洗涤纤维 ADF	20.50
粗灰分 Ash	5.35
钙 Ca	1.02
磷 P	0.46
镁 Mg	0.39
钾 K	1.27
钠 Na	0.43

[1)]每千克预混料含有 One kg of premix contains the following：VA 1 200 000 IU，VD 450 000 IU，VE 8 000 IU，Mn 3 000 mg，Zn 1 500 mg，Fe 1 500 mg，Cu 500 mg，I 85 mg，Co 35 mg，Se 10 mg。

[2)]泌乳净能为计算值，数值来源于 NRC（2001），其他为检测值，由上海光明荷斯坦牧业有限公司检测中心检测。粗蛋白质、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、粗灰分、钙、磷、镁、钾和钠含量分别采用 GB/T 6432-1994、GB/T 20806-2006、NY/T 1459-2007、GB/T 6438-2007、GB/T 6436-2002、GB/T 6437-2002、GB/T 13884-2003、GB/T 13885-2003 和 GB/T 13885-2003 方法检测。NE_L is a calculated value from NRC (2001), while the others are

measured values that detected by Test Center of *Shanghai* Bright Holstan Co., Ltd. The contents of CP, NDF, ADF, Ash, Ca, P, Mg, K and Na were detected by the methods of GB/T 6432-1994, GB/T 20806-2006, NY/T 1459-2007, GB/T 6438-2007, GB/T 6436-2002, GB/T 6437-2002, GB/T 13884-2003, GB/T 13885-2003 and GB/T 13885-2003, respectively.

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

试验采用完全随机区组设计，将 40 头荷斯坦奶牛根据其血浆 BHBA 水平、体况评分、泌乳量、胎次和泌乳天数随机分成对照组和试验组 1、2、3，每组 5 个重复，每个重复 2 头牛（分组信息见表 2）。对照组饲喂基础饲粮（饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM），试验组 1、2、3 分别在基础饲粮中加入亚硒酸钠（Na_2SeO_3）至饲粮硒含量分别达 0.30、0.45 和 0.60 mg/kg DM。试验分为 3 期，每期 1 周。

1.2.2 样品采集与处理

于每期试验结束当天晨饲前 1 h，用 10 mL 肝素钠抗凝真空采血管尾静脉采血，取 3 mL 抗凝全血-20 ℃保存以测定全血中硒含量，剩余抗凝血 4 ℃、1 000×*g* 离心 10 min，分离血浆并于-20 ℃保存，用于血浆中葡萄糖、BHBA 和 NEFA 水平的测定。

试验第 2 期结束当天从每组中随机挑选 5 头牛采集肝组织样品，参照叶耿坪[13]的方法进行样品处理，样品用于测定肝脏中硒含量、抗氧化指标[总抗氧化能力（T-AOC）、超氧化物歧化酶（SOD）活性、丙二醛（MDA）含量、过氧化氢（H_2O_2）含量和 GPx 活性]以及 *GPx*1 和 *GPx*4 mRNA 的表达。

表 2 试验牛分组信息

Table 2 Information of trial dairy cows

项目 Items	对照组 Control group	试验组 1 Test group 1	试验组 2 Test group 2	试验组 3 Test group 3	*P* 值 *P*-value
牛头数 Cow number	10	10	10	10	—
初始 β-羟丁酸水平 Initial BHBA	1.48±0.28	1.51±0.26	1.55±0.30	1.46±0.23	0.514

level/(mmol/L)					
体况评分 BCS	3.75±0.24	3.83±0.33	3.8±0.39	3.8±0.35	0.627
泌乳量 Milk yield/(kg/d)	39.0±4.2	37.6±5.8	37.0±5.0	40.1±4.3	0.209
泌乳天数 Lactation days/d	6.1±1.0	6.3±1.4	6.7±1.2	6.2±1.0	0.302
胎次 Parity/胎	3.3±1.0	3.5±0.9	3.2±0.6	3.7±1.1	0.259

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同 。

In the same row , values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

1.2.3 样品分析

全血和肝脏中硒含量的检测参照吴显实[14]的试验方法。

血浆中葡萄糖、BHBA 和 NEFA 水平，以及肝脏中 H_2O_2 含量、T-AOC、GPx 活性、SOD 活性、MDA 含量的检测均按照南京建成生物工程研究所生产的试剂盒操作说明进行（试剂盒编号依次为 F006、H169、A042、A064、A015、A005、A001 和 A003），均采用分光光度法进行检测。

肝脏中 *GPx*1 和 *GPx*4 mRNA 的表达采用实时荧光定量 PCR 检测，以 β-肌动蛋白（β-actin）为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法分析目的基因的相对表达水平，具体操作参照叶耿坪[13]试验中肝组织基因表达的研究方法进行，所用引物序列见表 3 。

表 3 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 3 Primers sequences used for real-time qPCR

目的基因 Target genes	GenBank 登录号 GenBank accession No.	引物序列 Primer sequence (5′−3′)	**片段长度** Fragment length/bp
β-肌动蛋白 β-actin	AY141970.1	F:GCAGGTCATCACCATCGG R:CCGTGTTGGCGTAGAGGT	158
谷胱甘肽过氧化物酶 1 *GPx*1	NM_174076.3	F:CTTGCTGCTTGGCGGTCA R:AGGGGAGGCTGGGATGGATA	139
谷胱甘肽过氧化物酶 4 *GPx*4	NM_174770.3	F:CAACCAGTTTGGGAGGCAGG R:TCACCACACAGCCGTTCTTG	227

1.3 统计分析

数据采用 SAS 9.2 的 Mixed 模型进行 Compound Symmetry Covariance Structure 分析，以 Duncan 氏法进行多重比较，结果以平均值±标准差（mean±SD）表示，判断标准为：$P<0.05$ 表示差异显著，$0.05 \le P<0.10$ 表示具有影响趋势。

2 结果与分析

2.1 饲粮硒含量对酮病奶牛全血和肝脏中硒含量的影响

由表 4 可知，饲粮硒含量对酮病奶牛全血和肝脏中硒含量均有显著影响（$P<0.05$）。与饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时相比，饲粮硒含量达到 0.30、0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛全血和肝脏中硒含量均显著升高（$P<0.05$）；饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛全血和肝脏中硒含量无显著性差异（$P>0.05$），但均显著高于饲粮硒含量为 0.3 mg/kg DM 时（$P<0.05$）。

表 4 饲料硒含量对酮病奶牛全血和肝脏硒含量的影响

Table 4 Effects of dietary Se content on whole blood and liver Se content of ketotic dairy cows

项目 Items	对照组 Control group	试验组 1 Test group 1	试验组 2 Test group 2	试验组 3 Test group 3	*P*-值 *P*-value
全血 Whole blood/(μg/L)	107.03±8.94[c]	131.37±6.07[b]	167.97±22.20[a]	175.47±21.93[a]	<0.05
肝脏 Liver/(μg/kg)	152.8±15.7[c]	206.1±15.2[b]	292.4±12.9[a]	298.1±11.2[a]	<0.05

2.2 饲粮硒含量对酮病奶牛血浆中能量代谢指标的影响

由表 5 可知，饲粮硒含量对酮病奶牛血浆中葡萄糖和 BHBA 水平无显著影响（$P>0.05$），但显著影响血浆中 NEFA 水平（$P<0.05$）。与饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时相比，饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛血浆中 NEFA 水平均显著降低（$P<0.05$），且与饲粮硒含量为 0.30 mg/kg DM 时相比，酮病奶牛血浆中 NEFA 水平均有降低趋势（$P<0.10$）。

表 5 饲粮硒含量对酮病奶牛血浆中能量代谢指标的影响

Table 5 Effects of dietary Se content on plasma energy metabolism indicators of ketotic dairy cows

项目 Items	对照组 Control group	试验组 1 Test group 1	试验组 2 Test group 2	试验组 3 Test group 3	*P*-值 *P*-value
葡萄糖 Glucose/(mg/dL)	52.49±4.09	53.45±3.99	53.21±3.06	54.10±3.28	0.374
β-羟丁酸 BHBA/(mmol/L)	1.42±0.12	1.33±0.15	1.25±0.17	1.23±0.09	0.149

非酯化脂肪酸 NEFA/(μEq/L)	482.2±27.2[a]	476.7±20.7[ab]	458.8±16.2[b]	461.1±12.7[b]	<0.05

试验组 2 和试验组 3 的血浆 NEFA 水平与试验组 1 相比有降低趋势（*P*<0.10）。图 1 同。

There has a tendency toward lower plasma NEFA level in test groups 2 and 3 compared with test group 3 (*P*<0.10). The same as Fig.1.

2.3 饲粮硒含量对酮病奶牛肝脏中抗氧化指标的影响

由表 6 可知，饲粮硒含量对酮病奶牛肝脏中各抗氧化指标均有显著影响（*P*<0.05）。与饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时相比，饲粮硒含量为 0.30、0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛肝脏中 T-AOC 均显著升高（*P*<0.05）；同时，饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛肝脏中 T-AOC 显著高于饲粮硒含量为 0.30 mg/kg DM 时（*P*<0.05）。肝脏中 SOD 活性变化同 T-AOC 的变化。与饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时相比，酮病奶牛肝脏中 MDA 和 H_2O_2 含量在饲粮硒含量为 0.30、0.45 和 0.60 mg/kg DM 时均显著下降（*P*<0.05）；同时，酮病奶牛肝脏中 MDA 和 H_2O_2 含量在饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时要显著低于饲粮硒含量为 0.30 mg/kg 时（*P*<0.05）。与饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时相比，饲粮硒含量为 0.30、0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛肝脏中 GPx 活性均显著升高（*P*<0.05）；同时，饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛肝脏中 GPx 活性显著高于饲粮硒含量为 0.30 mg/kg DM 时（*P*<0.05）。饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛肝脏中各抗氧化指标均无显著性差异（*P*>0.05）。

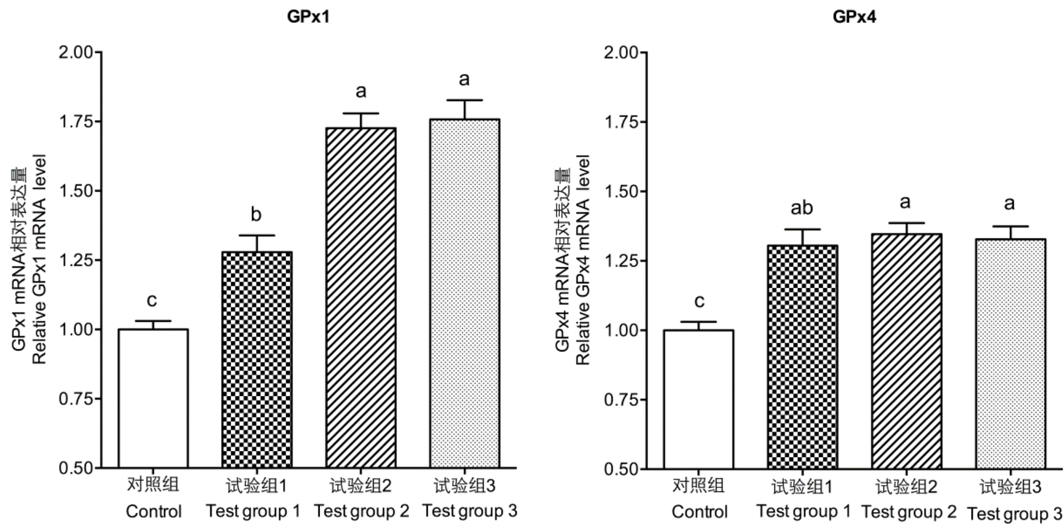
表 6　饲粮硒含量对酮病奶牛肝脏中抗氧化指标的影响

Table 6　Effects of dietary Se content on liver antioxidant indexes of ketotic dairy cows

项目 Items	对照组 Control group	试验组 1 Test group 1	试验组 2 Test group 2	试验组 3 Test group 3	*P*-值 *P*-value
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot)	0.49±0.10[c]	0.90±0.31[b]	1.53±0.09[a]	1.56±0.11[a]	<0.05
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	235.1±7.4[c]	288.0±11.5[b]	392.3±5.6[a]	381.4±11.3[a]	<0.05
谷胱甘肽过氧化物酶 GPx/(U/mg prot)	121.2±14.8[c]	252.9±12.5[b]	419.9±10.8[a]	425.6±12.7[a]	<0.05
丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)	9.62±0.90[a]	6.83±0.77[b]	2.13±0.90[c]	1.92±0.58[c]	<0.05
过氧化氢 H_2O_2/(nmol/mg prot)	236.8±20.4[a]	105.2±16.7[b]	58.4±9.4[c]	55.6±9.0[c]	<0.05

2.4 饲粮硒含量对酮病奶牛肝脏 *GPx*1 和 *GPx*4 mRNA 相对表达水平的影响

由图 1 可知，与饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时相比，酮病奶牛饲粮硒含量达到 0.30、0.45 和 0.60 mg/kg DM 时肝脏中 *GPx*1 和 *GPx*4 mRNA 的相对表达水平均显著增加（$P<0.05$）；饲粮硒含量为 0.45 和 0.60 mg/kg DM 时酮病奶牛肝脏中 *GPx*1 和 *GPx*4 mRNA 的相对表达水平无显著差异（$P>0.05$），但二者与饲粮硒含量为 0.30 mg/kg DM 时相比有增加的趋势（$P < 0.10$）。



数据柱形标注不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

Date columns with different small letters mean significant difference ($P<0.05$).

图 1　饲粮硒含量对酮病奶牛肝脏 *GPx*1 和 *GPx*4 mRNA 相对表达水平的影响

Fig.1　Effects of dietary Se content on liver *GPx*1 and *GPx*4 mRNA relative expression levels of ketotic dairy cows

3　讨　论

硒以硒半胱氨酸的形式参与到硒酶肽链里，且位于酶活性中心，给动物补硒能激活动物体内自身抗氧化系统中的 GPx，有效清除机体内的 H_2O_2、有机过氧化物（ROOH）、磷脂氢过氧化物和胆固醇氢过氧化物等[15-16]。酮病奶牛体脂动员产生的 NEFA 在肝脏中氧化分解，导致 ROS 增多，从而促进氧化应激的发生[17]，氧化应激可导致奶牛机体功能紊乱，进而影响奶牛的生产性能[6-7]。给酮病奶牛饲粮补充硒可激活机体自身抗氧化系统中的 GPx 活性及其基因的表达，促进催化还原型谷胱甘肽把体内有害过氧化物还原为无害的羟基化合物，从而保护细胞的结构和正常功能免受过氧化物的损害[11]。

本试验中，在硒含量为 0.15 mg/kg DM 的酮病奶牛饲粮中补充硒能显著提高全血和肝脏中硒含量，与前人得出的结论[18-19]一致，说明 0.15 mg/kg DM 的硒不足以满足酮病奶牛的需求。当

饲粮硒含量达到 0.45 mg/kg DM 时，全血和肝脏中硒含量均达到最大，再进一步添加硒达到 0.60 mg/kg DM 时，全血和肝脏中硒含量无显著增加，说明 0.45 mg/kg DM 的硒是酮病奶牛的最大也是最适硒需求量。与饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时相比，饲粮硒含量为 0.45 mg/kg DM 时显著提高了酮病奶牛肝脏中 T-AOC、SOD 活性和 GSH-Px 活性，显著提高了肝脏中 *GPx*1 和 *GPx*4 mRNA 的相对表达水平，且显著降低了肝脏中 MDA 和 H_2O_2 含量，充分说明在硒含量为 0.15 mg/kg DM 的酮病奶牛饲粮中补充硒达到 0.45 mg/kg DM 时能显著提高酮病奶牛机体的抗氧化能力，同时能降低机体遭受氧化应激的危害。许宗运等[19]也报道，饲粮硒含量为 0.45 mg/kg DM 时，奶牛有较好的抗氧化能力。此外，与对照组相比，饲粮中添加硒虽然对血浆中葡萄糖和 BHBA 水平无显著影响，但是能显著降低血浆中 NEFA 水平，可能是因为补硒减少了肝细胞遭受的氧化应激，较好地保护了肝细胞及其正常生理功能，从而有效维持肝脏的糖异生功能或减少糖异生功能的损失，进而维持和提高糖的合成，减少脂肪动员，最终减少 NEFA 的生成；亦或是因为补硒减少了肝细胞的氧化应激，从而保证了 NEFA 的正常代谢，促进 NEFA 的分解而减少了 NEFA 的蓄积。

4 结　论

饲粮硒含量为 0.15 mg/kg DM 时无法满足酮病奶牛对硒的需求，在本试验基础饲粮中补硒使饲粮硒含量达到 0.45 mg/kg DM 时能显著提高酮病奶牛的抗氧化能力，进一步增加硒含量抗氧化能力不再增加，确定 0.45 mg/kg DM 硒是酮病奶牛的最适需求量。

参考文献：

[1] 刘鹏,王霞光,李艳奇,等.奶牛酮病的发病原因及防治措施[J].浙江畜牧兽医,2007(1):31–32.

[2] MCART J A A,NYDAM D V,OSPINA P A,et al.A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis[J].Journal of Dairy Science,2011,94(12):6011–6020.

[3] 李修明,张洪友,袁子国,等.奶牛酮病的发病机理研究现状及防治策略[J].中国牛业科学,2008,34(3):29–31.

[4] 杨淑萍,王岩,王丽坤,等.奶牛酮病的发病机制及防制[J].畜牧兽医科技信息,2008(3):50.

[5] MUDROŇ P,REHAGE J,QUALMANN K,et al.A study of lipid peroxidation and vitamin E in dairy

cows with hepatic insufficiency[J].Journal of Veterinary Medicine：Series A,1999,46(4):219–224.

[6] MILLER J K,BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E,MADSEN F C.Oxidative stress,antioxidants,and animal function[J].Journal of Dairy Science,1993,76(9):2812–2823.

[7] BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E,MILLER J K,QUIGLEY III J D,et al.Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium[J].Journal of Dairy Science,1994,77(10):3087–3895.

[8] DANESI F,MALAGUTI M,NUNZIO M D,et al.Counteraction of adriamycin-induced oxidative damage in rat heart by selenium dietary supplementation[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2006,54(4):1203–1208.

[9] MAGGINI S,WINTERGERST E S,BEVERIDGE S,et al.Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses[J].British Journal of Nutrition,2007,98(Suppl.1):S29–S35.

[10] HOFFMANN F W,HASHIMOTO A C,SHAFER L A,et al.Dietary selenium modulates activation and differentiation of $CD4^+$ T cells in mice through a mechanism involving cellular free thiols[J].The Journal of Nutrition,2010,140(6):1155–1161.

[11] 藺文爱,黄应祥.微量元素硒及其对奶牛的营养作用[J].饲料工业,2005,26(19):44–45.

[12] NRC.Nutrient requirements of dairy cattle[S].7th ed.Washington,D.C.:National Academy Press,2001.

[13] 叶耿坪.富甘油酵母菌制剂对围产期奶牛能量平衡的影响及机理研究[D].博士学位论文.南京:南京农业大学,2014:83–100.

[14] 吴显实.富硒益生菌在奶牛生产上的应用效果及其作用机理研究[D].博士学位论文.南京:南京农业大学,2009:61–70.

[15] GAN F,CHEN X X,LIAO S F,et al.Selenium-enriched probiotics improve antioxidant status,immune function,and selenoprotein gene expression of piglets raised under high ambient temperature[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2014,62(20):4502–4508.

[16] BEHNE D,KYRIAKOPOULOS A.Mammalian selenium-containing proteins[J].Annual Review of Nutrition,2001,21(1):453–473.

[17] BIONAZ M,TREVISI E,CALAMARI L,et al.Plasma paraoxonase,health,inflammatory

conditions,and liver function in transition dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2007,90(4):1740–1750.

[18] 张丽娟.酵母硒对奶牛消化、抗氧化和泌乳性能的影响[D].硕士学位论文.乌鲁木齐:新疆农业大学,2007:14–28.

[19] 许宗运,张丽娟,韩俊文.不同水平酵母硒对奶牛血液抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2007,19(6):753–757.

Mitigative Effect of Dietary Selenium Content on Oxidative Stress of Ketotic Dairy Cows

ZHOU Yuanli[1] YE Gengping[2*] LIU Guanglei[2]

(1. *Pet Science and Technology College*, *Jiangsu Agri-Animal Huabandry Vocational College*, *Taizhou* 225300, *China*; 2. *Shanghai Bright Holstan Co., Ltd.*, *Shanghai* 200436, *China*)

Abstract: The present study was aimed to evaluate the mitigative effect of dietary selenium （Se） content on oxidative stress of ketotic dairy cows, and to confirm the Se requirement of ketotic dairy cows. Forty Holstein dairy cows with （3.43±0.87）parities, （6.33±1.14） days in milk, body weight of（644±36） kg, average milk yield of （38.42±4.82） kg/d and plasma β-hydroxybutyrate (BHBA) level of （1.50±0.26） mmol/L, were assigned to 4 groups (n=10) according to a completely randomized design. The 1st group was control group, and the dairy cows in this group were fed a basal diet (Se content was 0.15 mg/kg DM); the 2nd, 3rd and 4th groups were test groups, and the dairy cows in those groups were fed the basal diet added with sodium selenite (Na_2SeO_3) until the Se content was 0.30 (test group 1), 0.45 (test group 2) and 0.60 mg/kg DM (test group 3), respectively. The experiment period was divided into three periods and each period had 7 days. The blood samples were collected from all cows on the last day of each period, and the hepatic tissues were collected from five cows randomly selected from each group on the last day of the 2nd period. The results showed as follows: 1) the Se content in whole blood and liver, the total antioxidant capacity （T-AOC）, superoxide dismutase （SOD） activity, glutathione peroxidase （GPx） activity and the relative expression levels of *GPx*1 and *GPx*4 mRNA in liver of ketotic dairy cows in test groups

*Corresponding author, professor, E-mail: ygphappy@163.com (责任编辑 菅景颖)

were significantly higher than those in control group ($P<0.05$); meanwhile, those indexes in test groups 2 and 3 were significantly higher than those in test group 1 ($P<0.05$). 2) the malondialdehyde （MDA） and hydrogen peroxide （H_2O_2） contents in liver of ketotic dairy cows in test groups were significantly lower than those in control group ($P<0.05$); meanwhile, those indexes in test groups 2 and 3 were significantly lower than those in test group 1 ($P<0.05$). 3) No significant differences were found in plasma glucose and BHBA levels between test groups and control group ($P>0.05$), but the plasma not fat fatty acids (NEFA) level in test groups were significantly lower than that in control group ($P<0.05$). 4) there were no significant difference in the Se content in whole blood and liver, liver antioxidant indexes and plasma energy metabolism indicators of ketotic dairy cows when dietary Se contents were 0.45 and 0.60 mg/kg DM ($P>0.05$). In conclusion, diet containing 0.45 mg/kg DM Se can significantly improve the anti-oxidation ability of ketotic dairy cows.

Key words: ketotic dairy cows; Se; anti-oxidation; hepatic tissue; oxidative stress